



レーザー照射による抗菌性酸化チタン材の簡易作成 と海洋汚損生物付着防除への応用

メタデータ	言語: jpn 出版者: 室蘭工業大学 公開日: 2007-06-07 キーワード (Ja): キーワード (En): TiO ₂ , antimicrobial activity, laser irradiation, marine fouling organism, prevention of adhesion 作成者: 島津, 昌光, 高橋, 直斗, 神谷, 裕幸, 田中, 壽晃, 相馬, 英明, 菊池, 慎太郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10258/137

レーザー照射による抗菌性酸化チタン材の簡易作成と海洋汚損生物付着防除への応用

その他（別言語等）のタイトル	Simple Preparation of Antimicrobial TiO ₂ by Laser Irradiation and Its Application to Prevent the Adhesion of marine Fouling Organisms
著者	島津 昌光, 高橋 直斗, 神谷 裕幸, 田中 壽晃, 相馬 英明, 菊池 慎太郎
雑誌名	室蘭工業大学紀要
巻	50
ページ	83-90
発行年	2000-11-30
URL	http://hdl.handle.net/10258/137

レーザー照射による抗菌性酸化チタン材の簡易作成と 海洋汚損生物付着防除への応用

島津 昌光*¹, 高橋 直斗*¹, 神谷 裕幸*¹, 田中 壽晃*², 相馬 英明*², 菊池慎太郎*¹

Simple Preparation of Antimicrobial TiO₂ by Laser Irradiation and Its Application to Prevent the Adhesion of Marine Fouling Organisms

Masamitsu SHIMAZU, Naoto TAKAHASHI, Hiroyuki KAMIYA, Toshiaki TANAKA,
Hideaki SOUMA and Shintaro KIKUCHI

(原稿受付日 平成12年 4月28日 論文受理日 平成12年 8月31日)

Abstract

The titania containing TiO₂ as a major component was prepared simply by irradiating carbon dioxide laser on the surface of a titanium plate, and the growth on its surface of *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* or *Saccharomyces cerevisiae* was inhibited depending on energy densities of irradiated laser. Furthermore, the titania also showed antimicrobial activities against marine microbes after soaking the preparation into the sea water for several days. These results suggested that the antimicrobial titania would prevent the adhesion of marine fouling organisms on undersea-structures by the inhibition of the bacteriofilm formation, which is an early step of marine bio-adhesion.

Keywords: TiO₂, Antimicrobial activity, Laser irradiation, Marine fouling Organism, Prevention of Adhesion

1 はじめに

近年、社会的な環境衛生意識の拡大に伴って、微生物(細菌類や真菌類の総称)の増殖を阻害する活性(静菌活性)や死滅させる活性(殺菌活性)などのいわゆる抗菌活性が注目されるようになり、多くの抗菌性薬剤や抗菌性材料も開発されつつある。

しかし抗生物質をはじめとする抗菌性薬剤の抗菌性発現機構は、標的微生物の代謝活性に依存しているために標的微生物が抗菌性薬剤分解活性を誘導して獲得するなど対薬剤抵抗性微生物すなわち耐性菌の出現頻度も高い。⁽¹⁾

他方、有機錫化合物や亜酸化銅などの重金属化合物に代表される抗菌性材料の抗菌性発現機構は、標的微生物細胞の機械的(物理的)攻撃によるものであるために耐性菌はほとんど出現しない。しかし例えば有機錫化合物が効果的に抗菌性を発現するためには処理面から重金属化合物が流出することが必須であり、結果的に環境汚染をもたらすに至ったことは良く知られている通りである。⁽²⁾ さらに亜酸化銅などある種の重金属は使用濃度によっては抗菌作用とは逆に微生物の増殖を促進する作用の現れることもあり(オリゴダイナミックアクション)、十分な抗菌活性を発現させるための取り扱いが繁雑であって簡便な実用に適しているとは言い難い。⁽³⁾

他方、TiO₂ や SrTiO₃ などの一群の金属は光によって励起されて酸化還元活性を獲得するため光半導体

*1 応用化学科

*2 (財)室蘭テクノセンター

と呼ばれる。すなわち本多・藤嶋効果⁽⁴⁾として知られるこのような効果は、光半導体にそのバンドギャップ以上のエネルギーを照射すると価電子帯の電子(e⁻)が伝導帯に励起され、同時に価電子帯に正孔(h⁺)が生じて、結果的に金属表面に電子-正孔対が形成されることに起因する。伝導帯に励起された電子は価電子帯の電子よりバンドギャップ分だけエネルギー準位が高いために還元力が高く、また価電子帯の正孔は伝導帯の空準位よりバンドギャップ分だけ電子親和力が高いので酸化力が高い。例えば通常の水中や水分子を含む空気中で TiO₂ にそのバンドギャップ(3.2eV)に相当する波長(380nm)より短い波長の光を照射すると、酸素分子が還元され(O₂+e⁻=[•]O₂)、また水分子が酸化されて(H₂O+h⁺=[•]OH+H⁺)、[•]O₂ や[•]OHなどのラジカル分子種が生成する。

この時、光半導体表面に細菌などの微生物が付着しているなら、生成したラジカルは微生物の細胞膜に作用してその主成分であるリン脂質を過酸化脂質に変換する。⁽⁵⁾ リン脂質の過酸化物は化学的に不安定であるので容易に開裂し、結果的に細胞膜が破れて細胞内容物の漏出がもたらされて微生物は死に至り、抗菌効果が発現すると考えられる。

以上からすれば、光半導体による抗菌性発現の機構は上述のような従来の重金属によるそれとは全く異なるものであり、従って前述の耐性菌の出現や環境汚染あるいはオリゴダイナミックアクションを懸念する必要もない。しかし従来はチタン材を焼成する方法で酸化して光半導体としての特性を付与していたため均一で安定な光半導体を作成することが困難であり、従って光半導体である酸化チタンを抗菌性材料として応用しようとする試みも十分には行われていない状況にあった。

他方、ある種の海洋生物は孢子や卵子などの幼生を海中に放出して浮遊させ、その生育に適した環境の基盤に固着して生育することから付着生物と呼ばれている。中でもムラサキイガイやフジツボなどの幼生は、その表面構造が化学的に安定で機械的に硬い物質に固着する傾向があり、コンクリートや鉄鋼から成る人工構造物の海水水没部を絶好の固着基盤として構造物の機能低下や劣化促進を招くことから特に汚損生物と呼ばれる。

これら汚損生物の海中構造物への付着の機構は以下のようなプロセスを経ると考えられている。⁽³⁾ すなわち(1)海洋構造物表面に海洋生物の生活残滓に由来するタンパク質や脂質あるいは糖類などの有機物が吸着して有機物薄膜が形成された後、(2)この薄膜に

含まれる有機物を栄養源として薄膜表面に海洋微生物が増殖し、バクテリオフィルムと呼ばれる微生物皮膜が形成され、さらに(3)バクテリオフィルムを栄養源として藻類やムラサキイガイなどの汚損生物の成体や幼生が着生し、生育する。

従って理論的には、これらのプロセスのいずれかをブロック(阻止)することによって汚損生物の付着を防止し得ることが期待される。特にバクテリオフィルムは経時的に厚さを増して汚損生物生育のために豊富な栄養源を供給するキーマンステップであることから、汚損生物付着防止にはバクテリオフィルム形成のブロックが最も有効であると考えられている。

このような観点から本研究においては、チタン材表面にレーザーを照射して簡便に抗菌性酸化チタン材を形成する方法を検討するとともに、そのような抗菌性材料を海洋汚損付着生物防除に適用することを試みたので以下に詳細を論述する。

2 実験材料及び方法

2.1 被検菌株と培養

試験材料の抗菌性を測定するための被検微生物として以下の菌株を用いた。すなわち枯草菌(*Bacillus subtilis* IA-233 株)あるいは大腸菌(*Escherichia coli* K-12 株)を常法⁽⁶⁾に従っていずれもLB培地(脱イオン水 1 l 中、ポリペプトン:10g、酵母エキス:5g、塩化ナトリウム:10g 含む。pH7.5)で好氣的に培養し、それぞれグラム陽性分裂菌供試細胞あるいはグラム陰性分裂菌供試細胞とした。またサッカロミセス酵母(*Saccharomyces cerevisiae* DKD-5D 株)を同様に常法に従ってYPG培地(脱イオン水 1 l 中、酵母エキス:10g、ポリペプトン:20g、グルコース:20g を含む。pH6.8)で好氣的に培養して真菌類供試細胞とした。

2.2 レーザー照射によるチタン板の表面処理

レーザー発振機の移動速度と出力を変化させて照射エネルギー密度を調整した炭酸ガスレーザーを市販チタン板(3mm(T)×250mm(W)×250mm(L))に照射して表面処理を行った。なお以下においてはどのように表面処理したチタン材を試験チタン材あるいは抗菌性酸化チタン材と略記し、また未処理チタン板(市販チタン材)を対照チタン材あるいは非抗菌性チタン材と略記した。

2.3 試験材表面の分析

試験チタン材の表面分析は X 線回折装置を用いて

行った。測定は薄膜法を用い、ターゲット:Cu、測定範囲:20°～80°、サンプリング間隔:0.02deg、サンプリング速度:2.00deg/minとする条件で行った。

2.4 試験材の抗菌活性の測定

被検菌である枯草菌、大腸菌、あるいはサッカロミセス酵母を培養した後、それぞれの細胞を $10^2\sim 10^3$ 細胞/mlとなるように滅菌生理食塩水に懸濁して室温で1時間振盪して飢餓操作を行った。次いで予め乾熱滅菌した対照チタン材あるいは試験チタン材をエオジンガス滅菌シャーレ内に入れ、その表面に飢餓操作後の被検菌懸濁液 $50\mu l$ をマウントして室温で約1500ルクスの光を照射しながら静置した。所定の時間後に試験材表面にマウントした被検菌懸濁液を無菌チップで回収し、予め調整しておいたLB—寒天平板培地に塗抹接種し、さらに対照チタン材あるいは試験チタン材の表面を $50\mu l$ の滅菌生理食塩水で洗浄して洗液を先のLB—寒天平板培地に接種した。

その後、30°Cで一晩培養して出現するコロニーを計数して被検菌細胞数を推定し、次式から試験材の抗菌活性を被検菌の残存率として求めた。

$$\text{抗菌活性(被検菌残存率)} = \frac{\text{(チタン材と接触後に残存する被検菌細胞数)} / \text{対照実験における被検菌細胞数} \times 100$$

なお対照実験とは対照チタン材あるいは試験チタン材と接触させずに所定の時間光照射のみを行った系を言い、具体的には抗菌活性を有さないプラスチック板に被検菌懸濁液をマウントして光照射を行った。

2.5 海洋環境における試験材表面のバクテリオフィルム形成活性の測定

胆振管内豊浦町の沖合200m、水深20mの海中から取水した海水を同町海岸の施設屋内に設置した水槽(強化アクリル製、90cm(H)×120cm(W)×200cm(L))に供給し、⁽⁷⁾これに対照チタン材および試験チタン材を浸漬した。なお排水量を調整して水槽内海水の貯・排水を海洋の干潮及び満潮サイクルに同調させ、試験材の海水への浸漬—露出を自然海洋における海中構造物の浸水—露出環境に模した。対照チタン材及び試験チタン材へは約1000ルクスの光を照射し、また試験材の浸漬水深を約5cmに調整して海水による照射光の分散、反射及び吸収の量を最少とした。

所定の期間浸漬後、対照チタン材及び試験チタン

材を水槽から取り出して無菌人工海水で軽く洗浄して試験材表面に非特異的に付着あるいは堆積した海砂や塵を除去し、予め滅菌した濾紙片(ワットマン No.1 濾紙または同等品、5cm×10cm)でそれぞれのチタン材表面から微生物細胞を拭き取って回収した。濾紙片を滅菌人工海水に浸漬して室温で2時間振盪として微生物細胞を液相(人工海水)に移行させた後、上記と同様に液相の一部をLB—寒天平板培地に接種して出現するコロニー数から対照チタン材及び試験チタン材表面へ付着した微生物細胞数すなわちバクテリオフィルム形成活性を推定した。

3 実験結果と考察

3.1 酸化チタン薄膜の抗菌活性

微生物はその生化学的特性や細胞構造からカビや酵母などの真菌類と、細菌や放線菌などの分裂菌類とに大別されるが、前者の細胞外殻(表層)構造は後者に比較して著しく複雑であり、従って真菌類の抗菌性物質に対する応答は分裂菌類のそれとは全く異なる。

また細菌は、グラム染色法と呼ばれる鑑別染色に対する染色性の違いから大腸菌のようなグラム陰性菌と枯草菌に代表されるグラム陽性菌とに分類されるが、このような相違も分裂菌類の細胞表層構造の相違に起因する。すなわちグラム陽性菌の細胞表層は細胞壁とその内側の細胞膜の二層からのみ成る構造であるのに対し、大腸菌などのグラム陰性菌は細胞壁と細胞膜の間にペリプラズムと呼ばれる空隙を有する。細胞の機能・保護組織である細胞膜の外側にペリプラズムのような空隙=緩衝部位が存在するためグラム陰性菌はさまざまな機械的攻撃に強いとされており、またこの空隙は細胞内部への化学物質の取り込み(流入)に際して障壁部位として作用するため種々の抗菌性薬剤に対しても強い抵抗性を示すと考えられている。

従って、通常、これらの微生物はいずれも抗菌性物質の力価(抗菌性の強さ)を測定する際の指標微生物として用いられる。

これらの指標微生物に対する対照チタン材(無処理チタン板)及び試験チタン材(レーザー処理チタン材)の抗菌活性を表1に示した。高いエネルギー密度のレーザーを照射して表面処理した試験チタン材と大腸菌とを接触させると、残存する大腸菌数は減少する傾向にあり、レーザー照射によってチタン材が抗菌活性を獲得したことが示唆された。特に照射レーザーのエネルギー密度が $30\text{kJ}/\text{cm}^2$ を越えると、残存大腸菌数

表1 試験チタン材の大腸菌に対する抗菌活性

コード	照射エネルギー密度 (kJ/cm ²)	残存率 (%)
X-70	2	75
X-71	3	69
X-76	3	64
X-15	4.5	50
X-65	6	58
X-72	6	75
X-14	7.5	58
X-66	9	51
X-12	12.5	58
X-23	13.64	58
X-25	13.64	44
X-29	13.64	43
X-11	15	39
X-19	15	33
X-22	15	52
X-28	15	57
X-30	15	60
X-42	15	69
X-48	15	58
X-77	15	58
X-10	18.75	59
X-21	18.75	23
X-27	18.75	51
X-20	21.43	30
X-24	21.43	38
X-26	21.43	67
X-18	25	52
X-31	30	21
X-34	30	30
X-55	30	38
X-56	35	21
X-57	40	7
X-67	50	10
X-73	50	15
X-78	50	17
X-68	69.23	7
X-74	69.77	3
X-79	71.43	10
X-69	100	6
X-75	100	3
X-80	100	3
X-81	100	3

は有意に低下し、また残存率のバラツキも明らかに収束するなど、このエネルギー密度が抗菌活性発現の閾値であることが推定された。

他方、図1においてレーザー照射時の出力(W)をX軸に、チタン材へのレーザー照射時間を発振機の移動速度の関数としてY軸に、またその試験チタン材が発現する抗菌活性を大腸菌残存率(対照実験における菌数に対する試験チタン材との接触後に残存する菌数:単位%)としてZ軸にプロットした。

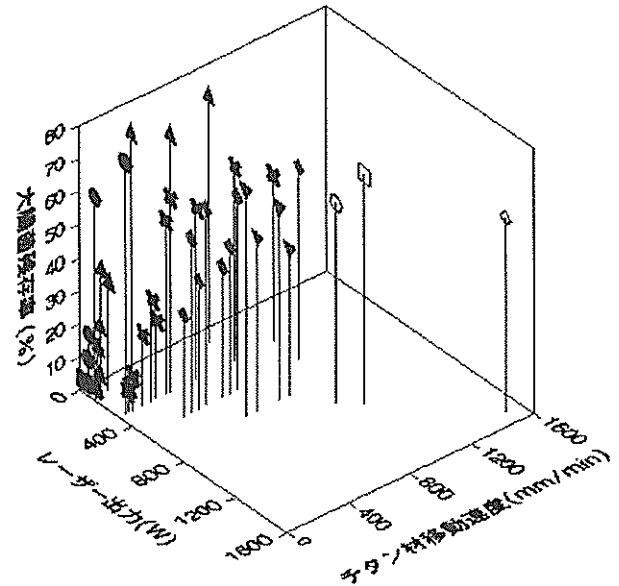


図1 試験チタン材の大腸菌に対する抗菌活性

抗菌活性は、試験チタン材と接触後に残存する細胞数を対照実験における細胞数で除した百分率で示した。レーザー出力(W)は■:30、●:50、▲:100、×:300、◆:500、▼:700、○:900、□:1000、◇:1500で示した。

同一のレーザー出力においては照射時間が長いチタン材ほど大腸菌残存率も低値であったが、この結果は抗菌活性が照射レーザー密度に依存するという上述の推定を支持するものである。さらに試験チタン材へのレーザー照射時間が同一の場合には抗菌活性に特別な差異は認められなかったが、この結果は試験チタン材が抗菌活性を獲得するためには照射レーザーのエネルギー密度に閾値があるとする上述の推定を補足するものである。

なお500W以上の高い出力のレーザーを長時間にわたって照射した試験チタン材においては均一で安定した抗菌活性が発現されなかったが、これは照射エネルギーが極めて高値であるためにチタン材表面が溶解することに起因すると推定された。

同様の方法でグラム陽性分裂菌類である枯草菌と真菌類であるサッカロミセス酵母を被検微生物として試験チタン材の抗菌活性について検討した結果を表2及び図2、ならびに表3及び図3に示した。

表2 試験チタン材の枯草菌に対する抗菌活性

コード	照射エネルギー密度	残存率
	(kJ/cm ²)	
X-70	2	68
X-71	3	64
X-76	3	59
X-65	6	62
X-72	6	66
X-25	13.64	52
X-42	15	43
X-48	15	52
X-20	21.43	41
X-24	21.43	33
X-26	21.43	35
X-73	50	25
X-78	50	37
X-79	71.43	21
X-69	100	14
X-75	100	12
X-81	100	8
X-80	100	7

に対して比較的抵抗性を示すことを考え併せると、グラム陽性菌(枯草菌)や真菌類(酵母)に対する抗菌性を発現させるための照射レーザーのエネルギー密度閾値は大腸菌よりも低値の約 15kJ/cm² であることが推定された。

表3 試験チタン材の酵母に対する抗菌活性

コード	照射エネルギー密度	残存率
	(kJ/cm ²)	
X-70	2	75
X-71	3	54
X-65	6	25
X-72	6	62
X-25	13.64	48
X-19	15	31
X-20	21.43	26
X-24	21.43	23
X-55	30	31
X-74	69.77	20
X-69	100	14
X-75	100	14
X-81	100	12
X-80	100	8

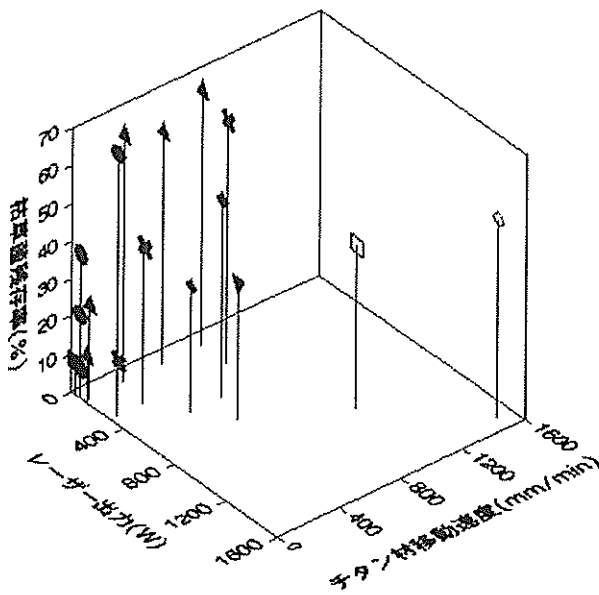


図2 試験チタン材の枯草菌に対する抗菌活性
抗菌活性は図1と同様に表示した。

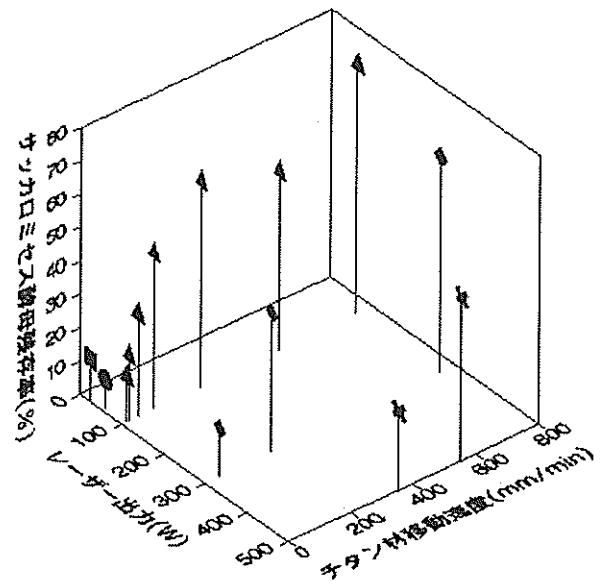


図3 試験チタン材の酵母に対する抗菌活性
抗菌活性は図1と同様に表示した。

いずれの微生物の場合も大腸菌の場合と同様の結果を示したが、これらは試験チタン材の抗菌活性がチタン材表面へ照射するレーザーのエネルギー密度に依存するという上述の推定を強く支持するものである。

さらにこれらの結果と、グラム陰性分裂菌類である大腸菌がペリプラズム空隙を有するために抗菌性物質

またいずれの被検微生物においてもエネルギー密度 100 kJ/cm² のレーザーを照射したテストピースにおいてはほぼ完全な抗菌活性が示された。

3.2 X線回折による抗菌性チタン材表面の分析

レーザー照射した試験チタン材表面をX線回折法によって検討したところ、抗菌性あるいは照射レーザーエネルギー密度にかかわらず試験チタン表面はTiO₂を主成分とする酸化物であった(図4)。TiO₂には

される。

以上から、レーザー照射によってチタン材表面にTiO₂を主成分とする酸化チタン薄膜が形成され、またこのように形成されるTiO₂薄膜においては照射レーザーのエネルギー密度によってルチル型あるいはアナターゼ型

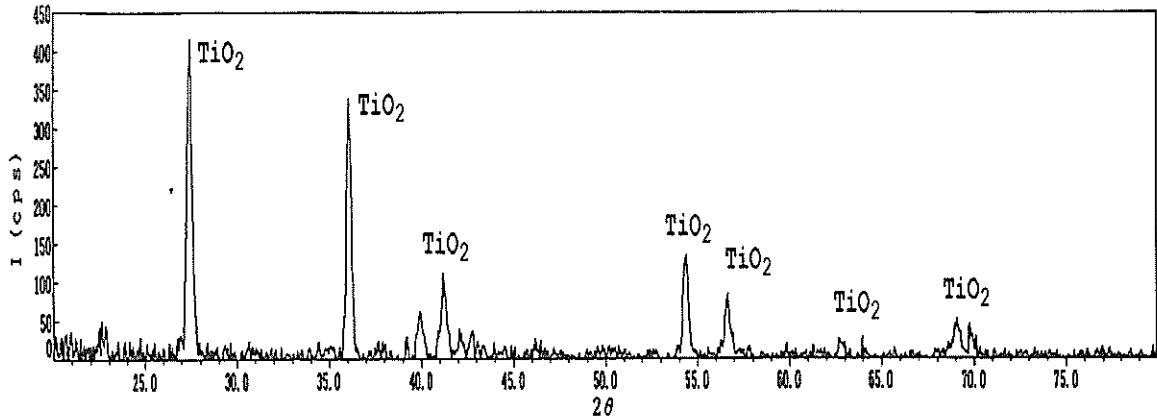


図4 X線回折による試験チタン材表面の分析

いくつかの結晶構造が存在し、その主な構造はルチル型及びアナターゼ型であるが(図5)、一般に前者(ルチル型、図5(b))に比較して後者(アナターゼ型、図5(a))においては励起される電子の酸化力が強く光半導体としての活性も高い。また、前述のよう

一ゼ型の存在比率が異なると推定される。従って、ある閾値(例えば 30 kJ/cm²)以上のエネルギー密度のレーザー照射条件下においてはアナターゼ型優位の結晶構造となり、結果的に高い抗菌活性を発現すると推定される。

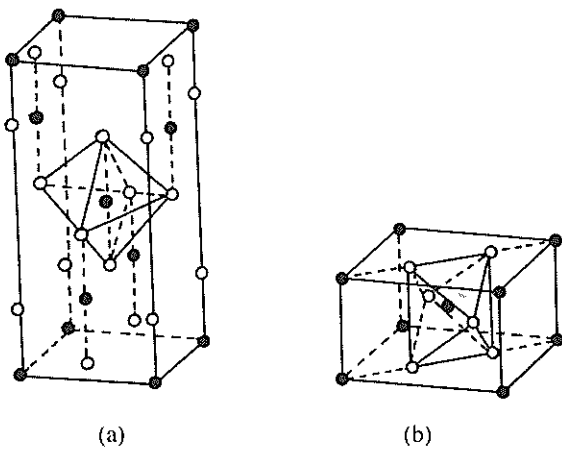


図5 酸化チタン(TiO₂)の代表的結晶構造

(a) アナターゼ型、(b) ルチル型

いずれにおいても ○:チタニウム原子
および●:酸素原子を示す。

に光半導体の抗菌活性は光によって励起された電子の酸化力に由来するラジカル分子種による微生物細胞膜開裂に起因することを考え併せるなら、アナターゼ型がルチル型よりも高い抗菌活性を発現すると推定

3.3 抗菌活性を有する酸化チタンによるバクテリアフィルム形成阻害

以上のように、特定のエネルギー条件下においてはレーザー照射によって高い抗菌活性を有する酸化チタン(TiO₂)薄膜を簡便に作成し得ることが明らかとなったが、このような抗菌活性が自然環境下において広範な種の微生物群に対して発現されるなら抗菌性酸化チタン材の応用範囲は著しく拡大すると期待される。

例えばこのような酸化チタン薄膜が自然海洋環境において海洋微生物群に対しても抗菌性を発現するならば、前述のバクテリアフィルムの形成をも阻止することが期待され、結果的に抗菌性酸化チタン材を海洋構造物へ適用することによる海洋汚損生物付着をも防除し得ることが期待される。

以上の観点から、海洋あるいは疑似海洋環境下における抗菌性酸化チタン材表面のバクテリアフィルム形成について検討した。すなわち照射エネルギー密度を調整して、ほぼ100%の高抗菌活性を発現する酸化チタン薄膜を表面に有する2種類の酸化チタン材(表1におけるコードX-69及びX-75:以下、それぞれ

プレート I 及びプレート II と略記)ならびに対照であるレーザー未処理のチタン材(対照チタン材:以下、プレート III と略記)を陸上に設置した水槽中に取り出した海洋海水に浸漬した。なおプレート I および II にはそれぞれ 100 kJ/cm^2 のエネルギー密度のレーザーを照射したが、表 1 から誘導される抗菌率(抗菌率 = $100 - \text{残存率}$)として、大腸菌に対して前者は 94% の抗菌率を、また後者は 97% といずれもほぼ 100% の抗菌率を発現した。

所定の時間浸漬した後、「実験材料及び方法」の項に記載の方法に従ってプレート表面の微生物細胞を測定し、その細胞数からバクテリアフィルム形成を推定した。

その結果を図 6 に示した。図においては、前述のように海洋の干・満潮に同調させて浸漬・露出を繰り返しながら被検プレートを水槽中に静置した日数を横軸にプロットし、またそれぞれの静置日数後にプロット表面に検出される海洋微生物細胞数を縦軸にプロットした。

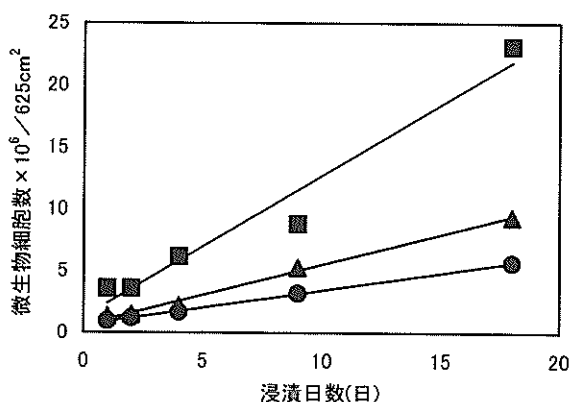


図6 対照チタン材あるいは抗菌性チタン材表面の海洋微生物数
●及び▲: 抗菌性チタン材(プレート-I 及び-II)
■: 対照チタン材(プレート-III)

対照チタン材表面(625cm^2)においては、静置 1 日を経過した後から有意量の海洋微生物細胞が検出され(3.6×10^6 細胞)、またその細胞数は静置日数の経過とともに直線的に増加して 18 日経過後には 23.1×10^6 に達した。

他方、大腸菌や枯草菌あるいは酵母に対して高い抗菌活性を発現するプレート II においては、海水中に静置 1 日後には対照チタン材(プレート-III)に検出される細胞数の 30% の海洋微生物細胞(1.3×10^6 細胞/ 625cm^2)が検出されたのみであり、また静置日数の経過とともに被検細胞数も直線的に増加はするもの

の、18 日間の静置日数を経ても検出細胞数は 9.3×10^6 にとどまった。

さらにこの傾向はプレート-I において著しく、静置 1 日後に検出される細胞数はわずかに $0.9 \times 10^6 / 625\text{cm}^2$ であり、また 18 日間の静置後にも $5.6 \times 10^6 / 625\text{cm}^2$ の細胞が検出されるのみであった。なお大腸菌などの一般微生物に対して同等に高い抗菌活性を発現するプレート-Iおよび-IIのそれぞれの表面に検出される海洋微生物細胞数に若干の差異のあることの理由は不明である。

前述のように、対照であるプレート-IIIおよび試験チタン材であるプレート-I 及び-IIのいずれも、滅菌人工海水で洗浄後に海洋微生物細胞数を測定したので、検出される細胞は単なる堆積等の非特異的形態でプレート表面に存在するものではなく、特異的にプレート表面に付着していると考えられる。従って検出細胞数はバクテリアフィルム形成能に比例することが示唆され、そのような観点からすればプレート-I および-IIはいずれも高いバクテリアフィルム形成阻止活性を有することが推定された。

さらに非抗菌性チタン材(対照チタン材またはプレート-III)あるいは抗菌性酸化チタン材(試験チタン材またはプレート-I 及び-II)表面に付着する海洋微生物細胞数はいずれも直線的に増加し、試験終了時(浸漬 18 日)には前者において 20×10^6 以上の微生物が存在し、後者においては $5 \sim 9 \times 10^6$ の微生物が存在した。その後も浸漬海水中で海洋微生物がプレート表面において同様の付着および増殖速度で増加すると仮定するならば、6 ヶ月後に非抗菌性チタン材に存在する微生物細胞数は 20×10^{16} に達し、他方、抗菌性酸化チタン材に存在する微生物細胞数は $5 \sim 9 \times 10^{10}$ にとどまると外挿的に算出される。⁽⁸⁾

比較的大型の海洋微生物は 10^{15} の細胞数で平均 $1 \sim 1.5\text{g}$ の湿重量であるので、これに基づくなら浸漬 6 ヶ月後の非抗菌性チタン材(プレート-III)には湿重量 $200 \sim 300\text{g}$ に相当する微生物細胞が存在し、また抗菌性酸化チタン材には $50 \sim 60 \mu\text{g}$ の微生物細胞が存在するのみと推定される。さらに、一般的に微生物細胞において炭素あるいは窒素はそれぞれ微生物細胞の湿重量の約 50%あるいは約 14%を占めるといわれており、これに従うならば 6 ヶ月間海水に浸漬した後の非抗菌性チタン材には $100 \sim 150\text{g}$ の炭素と $30 \sim 40\text{g}$ の窒素が存在すると推定されるが、これらはいずれも炭素源および窒素源として海洋藻類や海洋無脊椎動物などの大型汚損生物の生育を十分に支持し得

る栄養量である。⁽⁹⁾ 他方、6 カ月間浸漬した後の抗菌性酸化チタン材(プレート-I 及び-II)にはわずかに数十 μg の炭素および窒素が存在するのみであり、大型海洋生物の生育を支持する栄養源量としては明らか不十分である。

すなわちバクテリアフィルム形成の程度から推定される抗菌性酸化チタン材の汚損生物付着阻害は、この金属の海水浸漬期間が長いほど明瞭に発現されることが期待され、このような観点からも海洋構造物への汚損生物付着防除の目的で抗菌性酸化チタン材を適用することの有効性が強く示唆された。しかし他方、酸化チタンの抗菌活性は、この金属が光半導体としての特性を示す条件下(すなわち光照射下にラジカル分子種を生成する条件下)においてのみ認められる。従って酸化チタン材(アナターゼ型 TiO_2)によってバクテリアフィルムの形成を阻止し、汚損生物の付着を防除するためには十分な量の光照射を行うことが必須であり、水の分子による照射光の吸収や分散がもたらされるような深水部の構造物や光量が不十分な構造物内壁などへ抗菌性酸化チタン材を適用する場合には十分なバクテリアフィルム形成阻害効果の発現に困難を伴うことも予想される。

もとより以上に述べたような結果がただちに海洋汚損生物の付着の防除と結び付くものではないが、抗菌性材料の新たな利用に関する数少ない例のひとつとして興味深いものと考えられる。

文献

- (1) 三橋進 編, 薬剤感受性測定法, 講談社サイエンティフィック (1980), p1-21.
- (2) 日本水産学会 編, 海洋の生態系と微生物, 恒星社厚生閣 (1993), P50-84.
- (3) 梶原武, 海洋生物の付着機構, 恒星社厚生閣 (1991), P128-152.
- (4) A. Fujishima and K. Honda, Electrochemical Photolysis of Water at a Semiconductor Electrode, *Nature*, **238**(1972), p37-38.
- (5) P-C. Maness, S. Smolinski, D. M. Blake, Z. Huang, E.J. Wolfrum and W.A. Jacoby, Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO_2 Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**(1999), p4094-4098.
- (6) S. Kikuchi, J. Shibayama, H. Yasui, I. Yamamoto and M. Sato, Production of α -Amylase by an Immobilized Thermophilic Bacillus Strain under Nitrate Respiration, *Biosci. Biotec. & Biochem.*, **57** (1993), p845-846.
- (7) 菊池慎太郎, 大嶋尚士, 大島由子, 中村忠司, 館脇正和, 食品衛生学雑誌, **B3** (1992), p223-230.
- (8) E. ジャウエツ, 微生物学[上], 廣川書店, (1990).

p93-119.

- (9) 梶原武, 海産付着生物と水産増養殖, 恒星社厚生閣 (1987), p1-39.